

Pengaruh Penambahan Royal Jelly dalam Pengencer Dasar Soya terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Sebelum dan Sesudah Ekuilibrasi

Effects of Royal Jelly Addition into Soya Basic Diluent on the Quality of Boer Goat Spermatozoa Before and Post Equilibration

Masluchah*, Nur Ducha

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: masluchah@gmail.com

Abstrak. Ekuilibrasi adalah tahapan untuk menyimpan semen setelah pengenceran, dalam waktu 2 jam dengan suhu 4-5°C, bertujuan memberi waktu adaptasi sel spermatozoa terhadap perubahan kondisi pengencer. Kualitas semen menurun selama tahap penyimpanan pada suhu 4-5°C, sehingga membutuhkan pengencer yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi Royal Jelly (RJ) yang berbeda, dalam pengencer dasar soya terhadap motilitas dan viabilitas sebelum dan sesudah ekuilibrasi spermatozoa kambing Boer. Perlakuan konsentrasi RJ yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 perlakuan, dengan perbedaan konsentrasi RJ (0, 1, 2 dan 3%) dan 5 ulangan menggunakan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Boer. Pengamatan dilakukan sebelum dan sesudah ekuilibrasi selama 2 jam. Analisis data menggunakan uji Anava satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan RJ 3% memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrasi. Persentase tertinggi motilitas spermatozoa sebesar $51,5 \pm 3,35\%$ dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Penambahan RJ P3 (RJ 3%) juga memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) pada persentase viabilitas spermatozoa kambing Boer setelah ekuilibrasi dengan persentase tertinggi sebesar $50,53 \pm 3,93\%$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pengencer dasar soya dengan penambahan Royal Jelly 3% mampu memberikan pengaruh terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa kambing Boer selama ekuilibrasi. Implikasi dari penelitian ini adalah Royal Jelly dapat digunakan sebagai sumber antioksidan yang dapat ditambahkan dalam pengencer semen kambing Boer pada proses kriopreservasi.

Kata kunci: royal jelly; pengencer dasar soya; kualitas spermatozoa; spermatozoa Kambing Boer; ekuilibrasi

Abstract. Equilibration is the stage for storing semen after dilution within 2 hours at a temperature of 4-5°C to give the sperm cell adaptation time to changes in dilution conditions. The quality of semen will decrease during the storage stage at a temperature of 4-5 °C requiring diluents that can maintain the quality of spermatozoa. This study aimed to know the effect of adding Royal Jelly (RJ) in soya base diluent on motility and viability before and after the equilibration of Boer Goat sperm. The RJ concentration treatments used in this study were four treatments (0, 1, 2, and 3%) and five replications using a completely randomized design research method. The dependent variable in this study was the motility and viability of Boer goat sperm. Observation before and after 2 hours equilibration. Data analyzed by a one-way ANOVA test continued with the Duncan test. The results showed Royal Jelly 3% had a significant effect ($P < 0.05$) on spermatozoa motility after equilibration. The highest percentage of spermatozoa motility reach of value $51.5 \pm 3.35\%$ compared to other treatments. The addition of RJ 3% also had a significant effect ($P < 0.05$) on the percentage of Boer Goat sperm viability after equilibration, with a value of $50.53 \pm 3.93\%$. In conclusion, the addition of royal jelly to the soya base diluent can have the best influence in maintaining the quality of Boer Goat sperm during equilibration. The implication of this research, Royal Jelly is a source of antioxidants that can aid in the dilution of Boer Goat semen in the cryopreservation process.

Kata kunci: royal jelly; soya basic diluent; quality spermatozoa; Boer Goat sperm; equilibration

PENDAHULUAN

Salah satu bioteknologi reproduksi yang digunakan untuk meningkatkan mutu genetik ternak dan populasi dalam rangka peningkatan produktivitasnya yaitu Inseminasi Buatan (IB) (Mugiyati dkk., 2017). Penggunaan semen segar untuk program IB pada kambing dapat meningkatkan keberhasilan IB, akan tetapi keterbatasan waktu yaitu 10-16 jam setelah ejakulasi, jarak, serta transportasi semen di lapangan, menjadi kendala yang perlu ditemukan solusinya (Ohara dkk., 2010). Salah satu solusi yang umum diterapkan adalah penggunaan semen beku. Penggunaan semen beku dalam pelaksanaan IB menjadi strategi dalam mempertahankan kualitas semen selama penyimpanan (Sun dkk., 2019). Produktivitas ternak kambing pada usaha pembibitan dipengaruhi oleh kualitas semen beku yang digunakan antara lain motilitas, viabilitas, maupun konsentrasi spermatozoa dalam setiap dosisnya (Yata dkk., 2019). Penyimpanan semen dengan metode pembekuan dapat mempertahankan kualitas semen baik motilitas maupun viabilitas sel spermatozoa dalam waktu lama (Parkinson dan Morrell, 2019).

Metode pembekuan diawali dengan pengenceran pada suhu 37°C yang kemudian dilakukan ekuilibrisasi pada suhu 4 - 5°C selama 2 jam sebelum tahapan pembekuan (Jha dkk., 2019). Waktu ekuilibrisasi dilakukan pada suhu 4°C bertujuan untuk memberikan waktu pada membran sel spermatozoa beradaptasi agar lebih stabil pada suhu rendah sebelum dilakukan pembekuan (Belala dkk., 2016). Menurut Ducha dkk. (2013) semen sapi Limousin yang disimpan dengan suhu 4 - 5°C di refrigerator membutuhkan pengencer yang mampu melindungi sel spermatozoa akibat efek pendinginan. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses pembekuan pada semen kambing sangat bergantung pada metode penampungan, komposisi pengenceran, waktu ekuilibrisasi, proses pembekuan, serta protokol pada saat *thawing* (Ngoma dkk., 2016).

Kualitas semen selama proses pengawetan dengan menggunakan metode pembekuan secara kriopreservasi dipengaruhi kualitas semen sebelum dilakukannya pembekuan atau setelah ekuilibrisasi, termasuk motilitasnya (Hezavehei dkk., 2018). Motilitas dan viabilitas spermatozoa mengalami penurunan disebabkan oleh kerusakan struktur spermatozoa, perubahan fisiologi, dan kimiawi sel spermatozoa akibat dari peroksidasi lipid dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Alcay, 2016; Sun dkk., 2019). Penggunaan bahan pengencer yang tepat pada proses preservasi semen dapat mengurangi resiko penurunan kualitas semen (Rhochim dkk., 2017).

Menurut Audia dkk. (2017) IB dapat dilakukan dengan menggunakan semen dingin yang telah diencerkan sehingga selama penyimpanan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa. Menurut Susilawati dkk. (2016) syarat pengencer yang dapat digunakan sebagai media penyimpanan yaitu murah, mudah dan memberikan nutrisi untuk sumber energi spermatozoa. Menurut Vishwanat dan Shanon (2000) persyaratan pengencer yang digunakan dalam proses penyimpanan semen adalah harus (1) mengandung sumber energi berasal dari gula sederhana (glukosa, fruktosa), (2) larutan *buffer* yang mengakomodasi perubahan pH, dan (3) gliserol yang mempunyai fungsi ganda yaitu untuk memberikan osmolaritas pada medium dan sebagai pelindung termal.

Bahan pengencer semen yang menggunakan lesitin soya akan melindungi sel spermatozoa selama proses pembekuan (Yodmingkwan dkk., 2018). Penggunaan lesitin soya berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler menjadi pengganti keberadaan kuning telur yang telah banyak digunakan dalam pengenceran semen kambing sebagai pelindung sel spermatozoa dari *cold shock* (El-Sisy dkk., 2016; Chelucci dkk., 2015). Menurut Melliou dan Chinou (2014) menyatakan bahwa bioaktif dalam RJ mempunyai efek berupa antioksidan, antimikroba, meningkatkan aktivitas neural, mengurangi reaksi alergi dan hipersensitivitas, di samping juga mengandung vitamin C, E dan asam fenolat yang tinggi sebagai antioksidan.

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa penambahan RJ pada media pengencer soya memberikan manfaat dalam mempertahankan kualitas semen kambing Saanen selama masa inkubasi (Alcay dkk., 2016). Setiap spesies kambing memberikan reaksi yang spesifik dan tingkatan sensitivitas yang berbeda terhadap kondisi eksperimental seperti *cold shock*, pembekuan dan toleransi osmotik (Ngoma, dkk., 2017). Pengaruh penambahan RJ pada media pengencer semen kerbau (Shahzad dkk., 2016); pada domba Afsari (Amini dkk., 2019); kambing Beetal (Kaleem dkk., 2017); maupun pada babi (Iljenkaite dkk., 2020); juga menunjukkan hal yang sama, akan tetapi belum ada yang meneliti pada peranakan kambing Boer. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik penambahan RJ pada pengencer dasar soya selama tahap ekuilibrisasi semen kambing peranakan Boer yang dinilai dari motilitas dan viabilitas spermatozoa.

BAHAN DAN METODE

Preparasi pengencer dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Universitas Negeri Surabaya dan proses penelitian ini dilakukan di Laboratorium BBIB Singosari, Malang. Komposisi penyusun larutan pengencer pada penelitian ini menggunakan 1,65 g asam sitrat (Sigma), 2,96 g Tris base (Bio World), 2,00 g fruktosa (Bio World), 0,1 g penisilin (Meiji), 0,1 g streptomisin (Meiji), aquades steril (Otsuka) dan 4 g soya (Melilea) yang dihomogenkan dengan *deionized water* menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian dibagi menjadi 4 bagian dan ditambahkan RJ dengan konsentrasi yaitu 0%, 1%, 2% dan 3% dari volume total.

Penampungan semen pejantan kambing Boer peranakan yang merupakan persilangan kambing lokal dengan kambing Boer. Pejantan yang digunakan sebanyak 3 pejantan dengan umur antara 2 – 5 tahun. Penampungan semen dilakukan pada pagi hari dengan menggunakan *Artificial Vagina* (AV), semen segar yang diperoleh dari masing-masing pejantan kemudian dievaluasi secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, konsentrasi dan pH serta evaluasi secara mikroskopis meliputi motilitas massa dan individu. Semen segar yang digunakan adalah semen yang memiliki persyaratan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk IB yaitu motilitas individu $\geq 70\%$, motilitas massa minimal 2+, dan viabilitas $\geq 70\%$

Pengenceran semen dilakukan di Laboratorium BBIB Singosari, Malang. Semen dari ketiga pejantan yang telah didapat kemudian dikumpulkan dan diencerkan dengan pengencer yang ditambahkan RJ dengan berbagai konsentrasi yang berbeda. Ada dua tahap pengenceran, yang pertama dilakukan pada suhu 37°C dalam *waterbath*, dan tahap kedua setelah dilakukan perhitungan volume total. Semen yang telah diencerkan dilakukan ekuilibrisasi dalam waktu 2 jam dalam refrigerator menggunakan metode *water jacket* (Monova dan Ducha, 2019)

Penilaian motilitas spermatozoa sesuai penelitian Ducha (2018) motilitas spermatozoa dinilai di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x pada suhu 37°C dan penilaian oleh dua orang. Semen diteteskan pada *microscope slide* menggunakan ose dan ditutup *cover object* selanjutnya dihangatkan menggunakan *slide warmer* dengan suhu 37°C . Menurut Hariyanti (2016) bahwa spermatozoa progresif apabila bergerak aktif ke depan, tidak termasuk gerakan berputar dan mundur. Motilitas spermatozoa dinilai sebanyak dua kali, penilaian pertama dilakukan setelah dilakukan pengenceran sebelum ekuilibrisasi (H_0) dan yang kedua setelah perlakuan ekuilibrisasi dalam suhu $4 - 5^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam (H_1) (Jha dkk., 2019).

Penilaian viabilitas spermatozoa menggunakan pewarna eosin-negrosin dengan membuat apusan tipis. Penilaian dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Perbedaan warna menunjukkan hidup dan matinya sel spermatozoa, bagian kepala berwarna putih atau transparan menunjukkan spermatozoa hidup, sedangkan bagian kepala tampak berwarna merah muda atau ungu menunjukkan spermatozoa mati (Susilawati, 2011). Penilaian viabilitas dilaksanakan dua kali yaitu setelah tahap pengenceran kedua sebelum tahap ekuilibrisasi (H_0) dan setelah ekuilibrisasi pada suhu $4 - 5^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam (H_1) (Jha dkk., 2019).

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan perbedaan konsentrasi RJ (0, 1, 2 dan 3%) dan 5 ulangan. Hasil data persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Boer kemudian dilakukan uji normalitas serta homogenitas untuk mengetahui distribusi datanya. Selanjutnya dilakukan uji Anava satu arah pada data yang berdistribusi normal dan apabila terdapat perbedaan ($P < 0,05$) kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan. Analisa statistik menggunakan *software* SPSS versi 20.0.

HASIL

Hasil Anava satu arah pada motilitas spermatozoa kambing Boer sebelum dilakukan ekuilibrisasi tampak tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($P > 0,05$), yang artinya perbedaan konsentrasi penambahan RJ tidak mempengaruhi motilitas spermatozoa kambing Boer sebelum ekuilibrisasi (Tabel 1, Gambar 2).

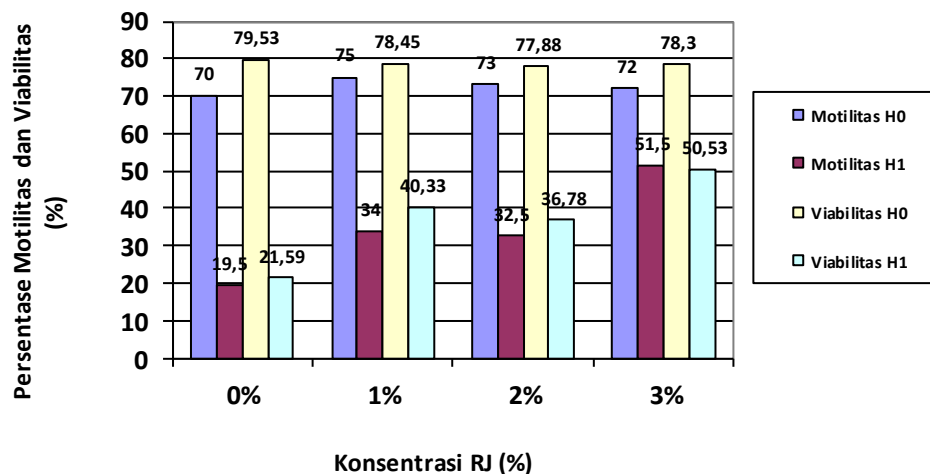
Tabel 1. Hasil rerata persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Boer sebelum dan sesudah ekuilibrisasi.

Perlakuan (Konsentrasi RJ)	Rerata Motilitas dan Viabilitas (%)			
	Motilitas		Viabilitas	
	H_0	H_1	H_0	H_1
P0 (0% RJ)	70,0 \pm 3,54	19,5 \pm 2,09 ^a	79,53 \pm 4,36	21,59 \pm 2,24 ^a

P1 (1% RJ)	75,0±5,00	34,0±2,85 ^b	78,45±4,14	40,33±3,25 ^b
P2 (2% RJ)	73,0±4,47	32,5±3,06 ^b	77,88±4,64	36,78±2,66 ^b
P3 (3% RJ)	72,0±5,70	51,5±3,35 ^c	78,30±3,71	50,53±3,93 ^c

Data disajikan dalam Rataan ± SD.

Keterangan : Perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ditunjukkan dengan notasi berbeda pada satu kolom yang sama (a,b, dan c).



Gambar 1. Rataan persentase viabilitas dan motilitas spermatozoa kambing Boer dalam pengencer dasar soya dengan penambahan konsentrasi RJ sebelum dan sesudah ekuilibrisasi.

Hasil pengamatan setelah ekuilibrisasi (H_1), untuk motilitas spermatozoa kambing Boer terdapat perbedaan antar perlakuan ($P < 0,05$) dan setelah dilakukan uji Duncan untuk motilitas perlakuan P1 (RJ 1%) menunjukkan perbedaan dengan P0 (RJ 0%) dan P3 (RJ 3%), akan tetapi tidak berbeda dengan P2 (RJ 2%), sedangkan P3 (RJ 3%) menunjukkan perbedaan dengan P0 (RJ 0%), P1 (RJ 1%), dan juga P2 (RJ 2%). Persentase nilai motilitas tertinggi yaitu dengan persentase sebesar 51,5±3,35% pada perlakuan P3 dan yang terendah dengan persentase 19,5±2,09% pada perlakuan P0.

Hasil Anava satu arah untuk viabilitas spermatozoa kambing Boer sebelum ekuilibrisasi (H_0) juga terlihat tidak ada perbedaan signifikan ($P > 0,05$) antara masing-masing perlakuan. Untuk variabel viabilitas spermatozoa setelah ekuilibrisasi hasil perhitungan Anava menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan, dan hasil uji Duncan menunjukkan setelah dilakukan uji Duncan untuk viabilitas spermatozoa perlakuan P1 (RJ 1%) menunjukkan perbedaan dengan P0 (RJ 0%) dan P3 (RJ 3%), akan tetapi tidak berbeda dengan P2 (RJ 2%), sedangkan P3 (RJ 3%) menunjukkan perbedaan dengan P0 (RJ 0%), P1 (RJ 1%), dan juga P2 (RJ 2%). Persentase dengan nilai viabilitas tertinggi ditunjukkan pada perlakuan konsentrasi RJ 3% sebesar 50,53±3,93%, dan yang terendah pada P0 dengan konsentrasi sebesar 21,59±2,24%.

PEMBAHASAN

Parameter kualitas semen kambing Boer yang diamati adalah dua komponen yaitu motilitas dan viabilitas spermatozoa. Berdasarkan data penilaian motilitas spermatozoa kambing Boer sebelum ekuilibrisasi didapatkan bahwa RJ yang ditambahkan dengan konsentrasi yang berbeda tidak menunjukkan hasil yang berbeda (**Tabel 1**). Demikian juga untuk viabilitas sel spermatozoa sebelum ekuilibrisasi. Penambahan RJ tidak memberikan pengaruh pada viabilitas sel spermatozoa sebelum ekuilibrisasi. Hal ini dikarenakan pengamatan dilakukan setelah tahap pengenceran sebelum semen mendapatkan perlakuan pendinginan sehingga belum terdapat perubahan pada kualitas spermatozoa secara keseluruhan. Penurunan viabilitas spermatozoa Tidak terjadi karena pengencer dasar soya mengandung sumber energi berupa fruktosa yang dapat digunakan oleh sel spermatozoa untuk metabolisme dan respirasi sel spermatozoa selama proses ekuilibrisasi. Penelitian Hanh dkk. (2019) menyebutkan bahwa kualitas spermatozoa kambing tidak terjadi penurunan pada penyimpanan baik suhu ruang 20°C ataupun suhu 37°C hingga 10 menit setelah dikoleksi. Menurut Noviansyah dkk.

(2017) kualitas semen dapat menurun dikarenakan terjadi perubahan fungsi membran sel sebagai akibat dari kerusakan membran sel spermatozoa saat proses pendinginan.

Data dari penelitian ini menunjukkan adanya penurunan persentase baik motilitas maupun viabilitas sel spermatozoa akibat proses ekuilibrasi atau pendinginan. Persentase motilitas sel spermatozoa terjadi penurunan dari $70,0 \pm 3,54\%$ (P0); $75,0 \pm 5,00\%$ (P1); $73,0 \pm 4,47\%$ (P2) dan $72,0 \pm 5,70\%$ (P3) menjadi $19,5 \pm 2,09\%$ (P0); $34,0 \pm 2,85\%$ (P1); $32,5 \pm 3,06\%$ (P2); dan $51,5 \pm 3,35\%$ (P3). Penurunan tersebut dikarenakan adanya perlakuan dingin pada semen sehingga dapat menurunkan motilitas sel spermatozoa. Penelitian Gororo dkk. (2019) menunjukkan selama ekuilibrasi pada suhu 4°C selama 2 jam akan menurunkan motilitas sel spermatozoa. Menurut Suaib (2018) penurunan tingkat motilitas setelah proses pengolahan berarti spermatozoa mengalami perubahan tekanan suhu yang berbeda-beda, kondisi ini memungkinkan terjadi *cold shock* sehingga membutuhkan adaptasi bagi spermatozoa setelah pengenceran. Menurut Susilawati (2011) *cold shock* terjadi karena stres oksidatif akibat terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) selama proses pendinginan.

Ekuilibrasi juga menurunkan viabilitas sel spermatozoa akibat dari penurunan suhu. Persentase viabilitas spermatozoa turun dari $79,53 \pm 4,36\%$ (P0); $78,45 \pm 4,14\%$ (P1); $77,88 \pm 4,64\%$ (P2); dan $78,30 \pm 3,71\%$ (P3) menjadi $21,59 \pm 2,24\%$ (P0); $40,33 \pm 3,25\%$ (P1); $36,78 \pm 2,66\%$ (P2); dan $50,53 \pm 3,93\%$ (P3) setelah ekuilibrasi. Data tersebut menunjukkan bahwa tahapan ekuilibrasi dapat menurunkan kualitas spermatozoa kambing Boer. Penurunan viabilitas semen disebabkan oleh perubahan suhu semen cair dari suhu awal 37°C menjadi suhu $4 - 5^{\circ}\text{C}$ sehingga terjadi juga perubahan fungsional membran sel spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Naresh (2016) yang menyatakan selama tahap ekuilibrasi semen akan mengalami penurunan viabilitas dan integritas membran sel spermatozoa. Menurut Chelucci dkk. (2015) membran sel spermatozoa kaya akan asam lemak jenuh yang dapat menjadi sebab terjadinya stres oksidatif yang akan menurunkan fungsi membran.

Keberhasilan proses pembekuan sangat tergantung pada kecepatan pendinginan dari suhu saat pengenceran (37°C) menuju suhu $4-5^{\circ}\text{C}$ dan keseimbangan homeostasis serta metabolisme sel (Ahmad dkk., 2015). Menurut Noviansyah dkk. (2017) menyatakan penurunan suhu mengakibatkan *cold shock* pada sel spermatozoa, dimana akan menyebabkan terjadinya perubahan fungsi membran sel yang dikarenakan adanya kerusakan lipid pada bagian membran. Menurut Parkinson dan Morrell (2019) pendinginan semen dari suhu tubuh ke suhu 5°C akan mengakibatkan kerusakan sel membran kecuali jika ditambahkan bahan yang dapat melindungi dari efek *cold shock*. Kandungan lesitin pada soya akan menjadi pelindung spermatozoa yaitu melindungi fungsi membran sel selama proses pendinginan. Menurut Monova dan Ducha (2019) kualitas semen domba ekor gemuk yang disimpan dalam waktu 4 hari dalam suhu $4-5^{\circ}\text{C}$ dapat dipertahankan dengan menambahkan soya pada pengencer dasar air kelapa.

Berdasarkan data pengamatan motilitas spermatozoa setelah 2 jam ekuilibrasi pada suhu refrigerator ($4-5^{\circ}\text{C}$), didapatkan bahwa perbedaan penambahan konsentrasi RJ (0, 1, 2, dan 3%) memberikan pengaruh yang berbeda pada persentase motilitas spermatozoa kambing Boer. Hasil uji Duncan dari keempat perlakuan menunjukkan penambahan RJ 1% dan 2% memberikan pengaruh yang berbeda dengan penambahan RJ 3% dan pengencer dasar soya tanpa RJ. Persentase motilitas tertinggi dihasilkan pada penambahan RJ 3% dengan motilitas $51,5 \pm 3,35\%$ dan yang terendah pada pengencer tanpa RJ. Hal ini dapat dikatakan penambahan RJ pada pengencer dasar soya melindungi sel spermatozoa lebih baik selama proses ekuilibrasi sebelum pembekuan. Hasil tersebut sesuai dengan hasil dalam penelitian Amini dkk. (2019) yang menunjukkan penambahan RJ sebanyak 3% meningkatkan persentase jumlah spermatozoa yang motil setelah pengenceran pada semen kambing. Pada penelitian yang lain sebelumnya penambahan antioksidan berkolerasi positif terhadap peningkatan motilitas sel spermatozoa selama pendinginan. Keberadaan antioksidan akan melindungi integritas dan fungsional membran sel spermatozoa, dan pada penelitian yang lain menyebutkan bahwa integritas membran mempunyai hubungan langsung terhadap motilitas sel spermatozoa (Shi dkk., 2020). Membran sel spermatozoa berfungsi sebagai transport ion ke dalam sel yang berfungsi sebagai pemicu pergerakan dan motilitas sel spermatozoa (Astrini dkk., 2017).

Menurut Toker dkk. (2016) dalam studinya menyebutkan penambahan antioksidan dalam pengencer dasar soya dapat mencegah terjadinya kerusakan sel spermatozoa akibat stres oksidatif. Hee dkk. (2019) dalam penelitiannya menyatakan bahwa MRJP2 yang merupakan bagian dari MRJPs dalam *royal jelly* memainkan peran penting sebagai antioksidan yang memperlihatkan perlindungan DNA sel terhadap reaksi oksidatif dan akan menghambat kerusakan DNA akibat ROS. Menurut Daramola dkk. (2015) mekanisme antioksidan dalam mempertahankan motilitas spermatozoa belum dapat diketahui secara pasti, tetapi diindikasikan dari peningkatan fungsi mitokondria sel akibat

penurunan terbentuknya ROS berhubungan dengan produksi energi dalam sel yang berkontribusi pada pergerakan dan motilitas spermatozoa.

Pengamatan viabilitas sel spermatozoa kambing Boer setelah ekuilibrasi menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan penambahan RJ pada pengencer dasar soya. Viabilitas tertinggi yaitu pada penambahan RJ 3% dengan persentase viabilitas $50,53 \pm 3,93\%$, karena semakin banyak RJ yang ditambahkan maka kandungan antioksidan dalam pengencer juga semakin tinggi. Keberadaan antioksidan dari RJ yang ditambahkan dalam pengencer dasar soya, akan mengurangi jumlah sel spermatozoa yang mati selama tahap ekuilibrasi. Seperti pada penelitian Amini dkk. (2019) penambahan royal jelly 3% pada pengencer semen kambing memberikan pengaruh terbaik pada viabilitas sel spermatozoa pada penyimpanan dingin. Hal tersebut menunjukkan bahwa kematian sel spermatozoa selama proses ekuilibrasi atau pendinginan semen akan berkurang dengan pemberian RJ pada pengencer sebagai agen antioksidan mampu melindungi sel spermatozoa. Menurut Rawash dkk. (2018) penambahan agen antioksidan pada pengencer akan memberikan efek perlindungan pada pembekuan semen kambing Boer dan mengurangi stres oksidatif. Menurut Daramola dkk. (2015) molekul antioksidan akan menangkal pembentukan ROS dan penambahan antioksidan dalam pengencer semen akan mempertahankan viabilitas spermatozoa selama proses pembekuan semen.

Penambahan RJ dalam pengencer semen memberikan kontribusi dalam mengurangi terbentuknya ROS selama proses pendinginan. Menurut Shahzad dkk. (2016) kandungan asam amino dalam RJ seperti asam aspartat, sistein, tirosin, glisin, lisin, leusin, valin, dan isoleusin akan memodulasi struktur membran sel dan protein terhadap kondisi stres dapat bekerja sebagai antioksidan kuat yang mencegah keberadaan ROS dalam semen sewaktu proses pembekuan. Penelitian sebelumnya dalam Shi dkk. (2019) memperlihatkan adanya peningkatan aktivitas antioksidan pada pengencer yang ditambahkan antioksidan berupa glutathione (GSH) yang terlihat dari aktivitas enzim GSH-Px, keberadaan Malondialdehyde (MDA) dan peningkatan *Total antioxidative capability* (T-OAC) seiring penambahan agen antioksidan pada pengencer semen kambing. Agen antioksidan akan memberikan elektronnya kepada radikal bebas yang terbentuk sehingga akan terjadi reaksi hidrolisis dalam mitokondria (Winterbourn, 2016).

SIMPULAN

Simpulan dari hasil penelitian ini adalah selama tahap ekuilibrasi motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Boer dapat dipertahankan dengan menambahkan RJ dalam pengencer dasar soya. Penambahan RJ sebanyak 3% pada pengencer dasar soya memberikan pengaruh terbaik dalam mempertahankan motilitas dan juga viabilitas spermatozoa selama tahap ekuilibrasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Nasrullah R, and Ahmad N, 2015. Effect of Cooling Rate and Equilibration Time on Pre-Freeze and Post-Thaw Survival of Buck Sperm. *Cryobiology*. 70(3): 233-238.
- Alcay S, Toker MB, Onder NT, and Gokce E, 2016. Royal Jelly Supplemented Soybean Lecithin-based Extenders Improve Post-thaw Quality and Incubation Resilience of Goat Spermatozoa. *Cryobiology*. Vol 74: 1-5.
- Amini S, Masoumi R, Rostami B, Shahir MH, Taghilou P, and Arslan HO, 2019. Effects of Supplementation of Tris-Egg Yolk Extender with Royal Jelly on Chilled and Frozen-Thawed Ram Semen Characteristics. *Cryobiology*, 88: 75-80.
- Astrini EA, Ducha N, dan Kusumawati N, 2017. Pengaruh Penambahan Alfa Tokoferol dalam Pengencer CEP-D terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Limousin yang Disimpan pada Suhu Beku. *Jurnal Lentera Bio*. Vol 6(2) : 27-31.
- Audia RP, Salim MA, Isnaini N, dan Susilawati T, 2017. Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau Sebagai Bahan Pengencer yang Ditambah 10% Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol 18(1) : 58-68.
- Belala R, Vinciguerra L, Tainturier D, Kaidi R, Thorin C, Michaud S, Anton M, and Bencharif D, 2016. Effect of Equilibration Time on the Motility and Functional Integrity of Canine Spermatozoa Frozen in Three Different Extenders. *Research in Veterinary Science*. Vol 106 : 66-73.
- Chelucci S, Pasciu V, Succu S, Addis D, Leoni GG, Manca ME, Naitana S, and Berlinguer F, 2015. Soybean Lecithin-Based Extender Preserves Spermatozoa Membrane Integrity and Fertilizing Potential during Goat Semen Cryopreservation. *Theriogenology*. 83: 1064-1074.
- Daramola JO, Adekunle EO, Oke OE, Onagbesan OM, Iyasere OS, Williams TJ, and Oyewusi JA, 2015. Effects of Pyridoxine and Acrosome Reaction of Goat Buck Spermatozoa during Cryopreservation. *Small Ruminant Research*. 131: 113-117.

- Ducha N, 2018. The Test about Blood Serum Capabilities in Maintaining the Quality of Bull Spermatozoa during Storage in CEP Diluent at Refrigerator Temperature. *Earth and Environmental Science* 130. Vol. - : hal 1-5.
- Ducha N, Susilawati T, Aulanni'am dan Wahyuningsih S, 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Refrigerator dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol 7(01) : 5-8.
- El-Sisy GA, El-Nattat WS, El-Sheshtawy RL, El-Maaty AMA, 2016. Substitution of Egg Yolk with Different Concentrations of Soybean Lecithin in Tris-Based Extender During Bulls Semen Preservability. *Asean Pasific Journal of Reproduction*. 5(6) : 514-518.
- Gororo E, Zulu PT, Chatiza FP and Mhuka C, 2019. Effects of Different Extenders and Storage Temperature on Longevity of Small East African Goat (*Capra hircus*) Semen. *Small Ruminant Reseachr*. 175: 83-89.
- Hanh K, Failing K, and Wehrend A, 2019. Effect of Temperature and Time After Collection on Buck Sperm Quality. *BMC Veterinary Research*. Vol 15: 335.
- Hariyanti A, 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Etawah. *Skripsi*. Dipublikasikan. Semarang: Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro.
- Hee GP, Bo YK, Min JP, Yijie D, Yong SC, Kwang SL, and Byung RJ, 2019. Antibacterial Activity of Major Royal Jelly Proteins of the Honeybee (*Apis mellifera*) Royal Jelly. *Journal of Asia-Pasific Entomology*. Vol 22 : 737-741.
- Hezavehei M, Sharafi M, Kouchesfahani HM, Henkel R, Agarwal A, Esmaeili V and Shahverdi A, 2018. Sperm Cryopreservation: A Review on Current Molecular Cryobiology and Advanced Approaches. *RBMO*, Vol (00) : 1-13.
- Iljenkaite A., Kerziene S., Dauksiene A., Mikniene Z., Zilinskas H., Sutkeviciene N., 2020, The Effect of Royal Jelly on Boar Sperm Viability and Motility During Liquid Storage for 96 Hours. *ACTA VET*.Vol, 89 : 47-53
- Jha PK, Alam MGS, Al Mansur A, Naher N, Islam T, Bhuiyan MU, and Bari FY, 2019. Cryopreservation of Bangladesh Ram Semen Using Different Diluents and Manual Freezing Techniques. *Cryobiology*.Vol 89 : 35-41.
- Kaleem M, Rehman A, Mehmood U, Sattar MA, and Sciences A, 2017. Effects of Royal Jelly On Post Thaw Semen Quality Parameters. *Wayamba Journal of Animal Science*, 1495-1498.
- Melliou E and Chinou I, 2014. Chemistry and Bioactivities of Royal Jelly. *Department of Pharmacognosy and Chemistry of Natural Products*, Faculty of Pharmacy. Chapter 8 : hal 261-290
- Monova HA dan Ducha N, 2019. Pengaruh Penambahan Soya dalam Pengencer Dasar Air Kelapa (*Cocos nucifera*) terhadap Motilitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) pada Peyimpanan di Suhu 4-5°C. *Jurnal Lentera Bio*. Vol 8(3) : 268-272.
- Mugiyati, Salim MA, Isnaini N, dan Susilawati T, 2017. Pengaruh Air Kelapa Merah yang Muda dan Tua Sebagai Pengencer Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Penyimpanan Dingin. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol 18(1) : 20-26.
- Naresh S, 2016. Effect of cooling (4°C) and cryopreservation on Cytoskeleton Actin and Protein Tyrosine Phosphorylation in Buffalo Spermatozoa. *Cryobiology*. Vol 72(1) : 7-13.
- Ngoma L, Kambulu L, and Mwanza M, 2017. Factors Influencing Goat's Semen Fertility and Storage: Literature Review. *Journal of Human Ecology*. Vol 56 : 1-2.
- Noviansyah L, Tjandrakirana dan Ducha N, 2017. Pengaruh Penambahan Soya dalam Pengencer Dasar *Tris-Citris Acid-Fructose* (TCF) terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Boer Pasca Pembekuan. *Jurnal Lentera Bio*. Vol 6(1) : 23-26.
- Ohara L, Hanrahan JP, Richardson L, Donovan A, Fair S, Evans ACO and Lonergan P, 2010. Effect of Storage Duration, Storage Temperature, and Diluent on the Viability and Fertility of Fresh Ram Sperm. *Theriogenology*. 73: 541-549.
- Rawash ZM, Ebtihal AI, and El-Raey M, 2018. Effects of Reduced Glutathione on Boer Goat Semen Freezability. *Asian Pasific Journal of Reproduction*. 7(1): 33-38.
- Rhochim A, Salim MA, Isnaini N dan Susilawati T, 2017. Pengaruh Penghilangan Rafinosa Dalam Pengencer Tris Aminomethane Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Simpan Dingin. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol 18(1): 27-35.
- Parkinson TJ and Morrell JM, 2019. Artificial Insemination. In *Journal of Reproductive Medicine for the Obstetrician and Gynecologist (Tenth Edition)*. Vol 18: 746-777.
- Shahzad Q, Mehmood MU, Khan H, Husna A UI, Qadeer S, Azam A, and Ahmad M, 2016. Royal Jelly Supplementation in Semen Extender Enhances Post-Thaw Quality and Fertility of Nili-Ravi Buffalo Bull Sperm. *Animal Reproduction Science*. 167: 83-88.
- Shi L, Jin T, Hu Y, Niu H, and Ren Y, 2020. Effects of Reduced Glutathione on Ram Sperm Parameters, Antioxidant Status, Mitochondrial Activity and the Abundance of Hexose Transporters during Liquid Storage at 5°C. *Small Ruminant Research*.
- Suaib A, 2018. Kualitas Semen Kambing Peranakan Etawa (PE) pada Pengencer Andromed dengan Konsentrasi Spermatozoa Berbeda. *Skripsi*. Dipublikasikan. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.

- Sun L, Fan W, Wu C, Zhang S, Dai J, and Zhang D, 2019. Effect of Substituting Different Concentrations of Soybean Lecithin and Egg Yolk in Tris-Based Extender on Goat Semen Cryopreservation. *Cryobiology*. Vol 92: 146-150.
- Susilawati T, 2011. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol 12(2): 15-24.
- Susilawati T, Isnaini N, Yekti APA, Nurjanah I, Errico dan Costa ND, 2016. Keberhasilan Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku dan Semen Cair pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ilmu Peternakan*. 26(3): 14-19.
- Toker MB, Alcay S, Gokce E, and Ustuner B, 2016. *Cryobiology*. Vol 72: 205-209.
- Vishwanath R and Shannon P, 2000. Storage of Bovine Semen in Liquid and Frozen State. *Animal Reproduction Science*. 62: 23-53.
- Winterbourn CC, 2016. Revisiting the Reactions of Superoxide with Glutathione and Other Thiols. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 595: 68-71.
- Yata VK, Gangwar DK, Sharma V, Dubey SK, Yadav SK, Choudhary S, Kumar S, Mohanty TK, and Mohanty AK, 2019. Semen Analysis and Sperm Characteristics of Karan Fries Cattle. *Animal Reproduction Science*. Vol 212: 106250.
- Yodmingkwan P, Guntaprom S, Jaksamrit J, and Lertchunhakiat K, 2016. Effects of Extenders on Fresh and Freezing Semen of Boar Goat. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 11: 125-130.

Published: 30 September 2020

Authors:

Masluchah, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: masluchah11@gmail.com

Nur Ducha, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: nurducha@unesa.ac.id

How to cite this article:

Masluchah, Ducha N, 2020. Pengaruh Penambahan Royal Jelly dalam Pengencer Dasar Soya terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Sebelum dan Sesudah Ekuilibrasi . *LenteraBio*; 9(3): 218-225